



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 43 29 004 A 1**

⑤1 Int. Cl.⁶:
C 07 K 16/00

②1 Aktenzeichen: P 43 29 004.3
②2 Anmeldetag: 28. 8. 93
④3 Offenlegungstag: 9. 3. 95

DE 43 29 004 A 1

⑦1 Anmelder:
Max-Delbrück-Centrum für molekulare Medizin,
13125 Berlin, DE

⑦2 Erfinder:
Karsten, Uwe, Dr., 10407 Berlin, DE; Butschak,
Günter, Dr., 16321 Bernau, DE; Haase, Margit, 13125
Berlin, DE; Kiefer, Margot, 16341 Schwanebeck, DE

Der Inhalt dieser Schrift weicht von den am Anmeldetag eingereichten Unterlagen ab

⑤4 Monoklonale Antikörper gegen das Thomsen-Friedenreich-Antigen, ihre Herstellung und ihre Verwendung zum Tumornachweis

⑤7 Die Erfindung betrifft monoklonale Antikörper gegen das Thomsen-Friedenreich-Antigen und ihre Verwendung zum immunologischen und zum immunhistologischen Tumornachweis. Die neuen Antikörper gehören zur Klasse M und haben eine hohe Spezifität und Avidität. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die medizinische Diagnostik und die pharmazeutische Industrie.

DE 43 29 004 A 1

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft monoklonale Antikörper gegen das Thomsen-Friedenreich-Antigen (TF-Antigen), ein Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung zum immunologischen und immunhistologischen Tumornachweis. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die medizinische Diagnostik und die pharmazeu-

Das TF-Antigen ist ein weit verbreitetes menschliches Tumorantigen, das auf normalen Körperzellen nicht vorkommt. Es eignet sich daher zur Unterscheidung von normalen Zellen und Tumorzellen sowie auch zu immuntherapeutischen Ansätzen.

Es ist bekannt, daß bereits Antikörper gegen dieses Antigen hergestellt wurden. Die Herstellung monoklonaler Antikörper wurde z. B. von I. Steuden et al, Glycoconjugate J. 2, 203 (1985), beschrieben.

Es wurden auch schon Versuche unternommen, Tumornachweise mit Hilfe solcher Antikörper zu entwickeln. Die Schwierigkeit bei diesen Versuchen besteht darin, daß im Serum von Tumorpatienten neben dem TF-Antigen gleichzeitig Anti-TF-Antikörper sowie Antigen-Antikörper-Komplexe vorliegen. Deshalb werden an die Spezifität der einzusetzenden monoklonalen Antikörper hohe Anforderungen gestellt, die von den bisher bekannten Antikörpern nicht erfüllt worden sind.

Die Erfindung hat das Ziel, den Tumornachweis zu verbessern. Ihr liegt die Aufgabe zugrunde, monoklonale Antikörper gegen das TF-Antigen bereitzustellen, die eine hohe Spezifität aufweisen und in der genannten Zielrichtung verwendet werden können.

Die Aufgabe der Erfindung wird gemäß den Ansprüchen 1, 7, 12 und 13 gelöst, die Unteransprüche sind Vorzugsvarianten.

Die Hybridzellen werden erfindungsgemäß hergestellt durch

A. Immunisierung von Versuchstieren, in erster Linie von Mäusen, mit natürlichem oder synthetisch hergestelltem TF-Antigen,

B. Isolierung von Lymphozyten aus den Versuchstieren und Immortalisierung der Lymphozyten durch Zellfusion mit geeigneten Myelomzellen bzw. eine andere geeignete Immortalisierungsmethode,

C. Selektion der danach erhaltenen ca. 10000 immortalisierten Zellklone,

D. Testen der immortalisierten Zelllinien auf die Produktion von Antikörpern gegen das TF-Antigen,

E. Klonierung der Zellen aus den Kulturen, die Antikörper gegen das TF-Antigen produzieren, Vermehrung dieser Zellklone und Gewinnung der von diesen Zellen produzierten spezifischen Antikörper und

F. Ermittlung der Feinspezifität der Antikörper.

Zur Immunisierung wird entweder menschliches Glykophorin A, dessen Neuraminsäurereste abgespalten wurden, oder synthetisch hergestelltes und an Serumalbumin chemisch gebundenes TF-Antigen eingesetzt. Als Versuchstiere für die Immunisierung werden Mäuse, in erster Linie BALB/c-Mäuse, benutzt. Die Immortalisierung der aus den Versuchstieren gewonnenen Lymphozyten wird vorzugsweise durch Zellfusion mit Myelomzellen der Linie X63-Ag8.653 unter Zusatz von Polyethylenglykol (PEG) durchgeführt.

Die fusionierten Zellen werden durch ein selektives Kulturmedium isoliert, vorzugsweise durch Azaserin. Die immunologische Auswahl erfolgt aus ca. 10000 insgesamt gewachsenen Klonen, aus denen die Hybridzellklone mit der besten Spezifität gegen TF-Antigen isoliert werden. Im Falle der Immunisierung mit menschlichem Glykophorin A, dessen Neuraminsäurereste abgespalten wurden, wurde als aktivster Zellklon A78-G/A7 erhalten. Im Falle der Immunisierung mit synthetischem und an Serumalbumin chemisch gebundenem TF-Antigen wurde als aktivster Zellklon A68-B/A11 erhalten.

Die Zellklone haben folgende Eigenschaften:

A78-G/A7

Spezifität gegen das alpha- und beta-Anomere des TF-Antigens sowie das Gangliosid Asialo- G_{m1}.

Ig-Klasse M. Geeignet für Gefrier- und Paraffinschnitte, Enzymimmunoassays und Hämagglutinationstests. Hinsichtlich der Assaybedingungen sehr variabel und daher in vielen Assays einsetzbar, hohe Avidität.

A68-B/A11

Spezifität vorwiegend gegen das Beta-Anomere des TF-Antigens und TF-verwandte Glykolipide (Asialo- G_{m1}). Hohe Avidität. Ig-Klasse M. Geeignet vorzugsweise für Gefrierschnitte.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen monoklonalen Antikörper als Nachweisreagenzien. Sie können zum immunhistologischen Nachweis von Tumoren vorteilhaft verwendet werden. Dabei wird der Kulturüberstand (konditioniertes Kulturmedium) der betreffenden Hybridomzelllinien oder gereinigter Antikörper in geeigneter Verdünnung eingesetzt. Der Test selbst wird nach einer gängigen histologischen Technik an Gefrier- oder Paraffinschnitten durchgeführt, z. B. mittels der sogenannten ABC-Technik. Besonders geeignet für diese Methode sind die von der Hybridzelllinie A78-G/A7 produzierten Antikörper.

Die erfindungsgemäßen Antikörper können gleichermaßen zum immunologischen Nachweis von Tumoren in Körperflüssigkeiten wie z. B. Blutplasma eingesetzt werden. Dabei ist es notwendig, die gleichzeitige Anwesenheit von Antigen, Antikörpern und Antigen-Antikörper-Komplexen zu berücksichtigen.

Ein anderes Einsatzgebiet ist der Nachweis von TF-Antigen und verwandten Antigenen auf Glykolipiden. Dieser Nachweis ist vor allem in der medizinisch-biologischen Grundlagenforschung von Bedeutung.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Antikörper zur Isolierung und Reinigung von TF-Antigen. Dafür sind vor allem die von der Hybridzelllinie A78-G/A7 produzierten Antikörper geeignet.

Durch die Erfindung wird ermöglicht, den Nachweis des TF-Antigens exakter als bisher durchzuführen. Der Einsatz der erfindungsgemäßen Antikörper sichert, daß eine immunologische Reaktion definitiv nur mit einem Epitop des TF-Antigens erfolgt. Dadurch ist eine hohe Spezifität gegeben, und die Ergebnisse mit verschiedenen Proben sind reproduzierbar. Deshalb sind die erfindungsgemäßen monoklonalen Antikörper besonders geeignet für die Früherkennung und den Nachweis verschiedener Tumore sowohl auf immunhistologischem wie auf immunologischem Wege.

Die Erfindung soll nachfolgend durch Ausführungsbeispiele näher erläutert werden.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Herstellung der Hybridomzelllinie A78-G/A7 und von Antikörpern

Inzuchtmäuse des Stammes Balb/c wurden intraperitoneal mit 100 µg Asialo-Glykophorin (Sigma, Deisenhofen) in PBS, gemischt mit komplettem Freundschem Adjuvans, immunisiert. Nach 24 h wurden 100 mg/kg Körpergewicht Cyclophosphamid in PBS, ebenfalls i. p. verabreicht. Zwei Wochen später (4 Tage vor Entnahme der Milzzellen) wurde mit 100 µg Asialo-Glykophorin ohne Adjuvans nachimmunisiert.

Aspetisch präparierte Milzzellen einer wie vorstehend beschriebenen immunisierten Maus wurden nach Standardmethoden (Peters, H. H., et al.: "Monoklonale Antikörper, Herstellung und Charakterisierung", Springer, Berlin 1985; Karsten, U., et al., Methods in Enzymology 220, 228, 1993) mit Hilfe von Polyethylenglykol mit Maus-Myelomzellen der Zelllinie X63-AgS. 653 (Kearney, J. F., et al., J. Immunol. 123, 1548, 1979) fusioniert. Die Selektion der Hybridome erfolgte in Mikrottestplatten in einem Selektionsmedium mit Azaserin. Das Hybridomwachstum wurde mit Peritoneal-Feederzellen von Balb/c-Mäusen gefördert.

Die Testung der Kulturüberstände auf spezifische Antikörper gegen das TE-Antigen erfolgte in Enzymimmunoassays sowie in der Immunfluoreszenz. Für den Enzymimmunoassay wurden Asialo-Glykophorin (2 µg/ml, 50 µl pro Well) bzw. Glykophorin (als Negativkontrolle: gleiche Konzentration) an die feste Phase von Mikrottestplatten gebunden. Dann wurden je 50 µl des zu prüfenden Kulturüberstandes dazugegeben und inkubiert. Der Nachweis spezifischer Antikörper erfolgte über Peroxidase-markiertes Kaninchen-Anti-Maus-Ig nach üblichen Verfahren. Die Auswertung erfolgte mit einem Testplatten-Photometer (Spektra, SLT Labinstrument, Salzburg). Dabei wurde insbesondere nach Hybridom-Überständen gesucht, die mit Asialo-Glykophorin, nicht aber mit Glykophorin reagierten. Zwei Hybridome (A78-G/A7 und A78-H/C8) erfüllten diese Bedingung. Für den Immunfluoreszenztest wurden Zellen der Mammakarzinom-Zelllinie T-47D (Keydar, I., et al., Eur. J. Cancer 15, 659, 1979) auf Multitest-Objektträger als Monolayer-Kultur für 2 Tage aufwachsen gelassen, und zwar in zwei Sublinien (TF⁺ und TF⁻). Danach wurde das Kulturmedium abgesaugt, und die Präparate wurden trocknen gelassen. Der Test selbst wurde in üblicher Weise durch Inkubation mit Hybridom-Kulturüberständen und nachfolgend mit FITC-markiertem Ziegen-Anti-Maus-Ig durchgeführt und unter dem Fluoreszenzmikroskop (Jenamed fluorescence, C. Zeiss, Jena) ausgewertet. Im Immunfluoreszenztest wurden alle Kulturüberstände geprüft, die im Enzymimmunoassay positiv waren. Dabei wurde insbesondere nach solchen Überständen gesucht, die mit der TF⁺-Variante, nicht aber mit der TF⁻-Variante reagierten. Darüber hinaus wurde die zytologische Lokalisation des Antigens registriert und mit der Reaktion von FITC-markiertem Erdnußlektin (PNA: Serva, Heidelberg) verglichen. Von den beiden im Enzymimmunoassay gefundenen Hybridom-Überständen erfüllte einer (A78-G/A7) die Bedingungen des Immunfluoreszenztests. Das Hybridom A78-G/A7 wurde nach üblichen Methoden (Peters, H. H., et al., 1. c.) durch limitierende Verdünnung mehrfach kloniert und für die Langzeitlagerung bei -196°C eingefroren (Karsten, U., in Friemel, H., Hrsg., "Immunologische Arbeitsmethoden", 4. Aufl., S. 311ff., Fischer, Jena, 1991).

Die erfindungsgemäße Produktion des Antikörpers der Hybridomzelllinie A78-G/A7 erfolgte in üblichen Flaschenkulturen. Kulturüberstand aus diesen Kulturen wurde in allen folgenden Spezifitätstests und immunzytologischen sowie immunhistologischen Untersuchungen eingesetzt (siehe Beispiele 3-5).

Isotypenbestimmung: Der Isotyp des Antikörpers A78-G/A7 wurde mit einem kommerziellen Testkit (Pharmingen, San Diego, USA) als IgM, kappa ermittelt.

Beispiel 2

Herstellung der Hybridomzelllinie A68-B/A11 und von Antikörpern

Inzuchtmäuse des Stammes Balb/c wurden intraperitoneal mit einer Mischung von TF_β-BSA (synthetischem TF_β, über O-CETE an BSA gekoppelt: Janssen Biochemica, Beerse, Belgien) in PBS und komplettem Freundschem Adjuvans (Difco Laboratories, Detroit, USA) immunisiert. In Abständen von >1 Mio. wurde dreimal ohne Zusatz von Adjuvans nachimmunisiert. Vier Tage nach der letzten Immunisierung wurden Milzzellen einer dieser Mäuse nach Standardmethoden (Peters, H. H., et al., "Monoklonale Antikörper, Herstellung und Charakterisierung", Springer, Berlin, 1985) mittels Polyethylenglykol mit Maus-Myelomzellen der Zelllinie X63-Ag8.653 (Kearney, J. F., et al., J. Immunol. 123, 1548, 1979) fusioniert. Die Selektion der Hybridome erfolgte mittels Azaserin in Mikrottestplatten: das Wachstum wurde durch Peritoneal-Feederzellen unterstützt.

Das Screening der Hybridom-Kulturüberstände auf spezifische Anti-TF-Antikörper wurde mittels Enzymim-

munoassays und Immunfluoreszenztests durchgeführt. Im ersten Fall dienten TF β -BSA und BSA (Negativkontrolle), an Mikrottestplatten gebunden, als Antigene. Diese wurden mit 50 μ l Hybridom-Kulturüberstand pro Well inkubiert. Der Nachweis spezifisch gebundener Antikörper wurde in üblicher Weise mit Peroxidase-konjugiertem Zweitantikörper vorgenommen. Immunfluoreszenztests wurden an Multitest-Objektträgern ausgeführt, die mit einer Zell-Monolayer der Mammakarzinoma-Zelllinie MCF-7 (Soule, H. D., et al., J. Nat. Cancer Inst. 51, 1409, 1973) bewachsen waren. Zum Nachweis spezifischer Hybridom-Antikörper diente in diesem Fall FITC-markiertes Antiserum gegen Maus-Ig.

Bei der Untersuchung der aus dem Experiment hervorgegangenen Hybridome wurden mehrere gefunden, die im Enzymimmunoassay mit TF β -BSA, nicht aber mit BSA reagierten (A68-B/A11, A68-E/A2, A68-E/E3). Unter diesen Antikörpern zeigte jedoch nur A68-B/A11 eine Reaktion mit MCF-7-Zellen

Das Hybridom A68-B/A11 wurde nach der Methode der limitierenden Verdünnung mehrmals kloniert, zur Langzeitlagerung bei -196°C eingefroren und erfindungsgemäß zur Antikörperproduktion durch Kultivierung oder nach Transplantation herangezogen.

Als Isotyp des Antikörpers A68-B/A11 wurde IgM, kappa ermittelt.

Beispiel 3

Reaktionsspektrum der monoklonalen Antikörper A78-G/A7 und A68-B/A11

3.1 Reaktionsspektrum in Enzymimmunoassays mit einer Anzahl von Antigenen

Als Methode dienten übliche Enzymimmunoassays in Mikrottestplatten mit an die feste Phase adsorbierten Antigenen. Nach Inkubation mit dem monoklonalen Antikörper in verschiedenen Verdünnungen erfolgte der Nachweis mit Peroxidase-markiertem Anti-Maus-Ig und anschließender Farbreaktion mit o-Phenylendiamin. Die Extinktionen wurden mit einem Testplattenphotometer (Spectra, SLT Labinstruments) gemessen und ausgewertet (Tab. 1).

Tabelle 1

Reaktion der monoklonalen Antikörper A78-G/A7 und A68-B/A11 (Spezifität: Thomsen-Friedenreich-Antigen) mit TF $^{+}$ - und TF $^{-}$ -Antigenen

Antigen	TF	A78-G/A7	A68-B/A11
Glykophorin	-	-	-
Asialo-Glykophorin	+	++	(+)
TF α -BSA	+	(+)	++
TF β -BSA	+	+	+++
BSA	-	-	-
Anti-freeze glycoprotein	+	+	(+)
Asialo-Mucin aus Rindersperma	+	+++	+
Gangliosid GM ₁	-	-	-
Asialo-GM ₁	+	+	+
Asialo-Fetuin	-	-	-

3.2 Immunabsorptionsprofile der monoklonalen Antikörper A78-G/A7 und A68-B/A11

Methode: Antikörperhaltige Kulturbedstände wurden mit trägergebundenen synthetischen Oligosacchariden (Synsorb. Chembiomed, Edmonton, Canada) inkubiert und ihr Titer vor und nach Immunabsorption verglichen.

Tabelle 2

Absorptionsprofile mit synthetischen Immunosorbentien (Synsorb.), Symbole: + = vollständige, (+) = partielle, - = keine oder marginale Absorption

Synsorb-Typ (Antigen)	A78-G/A7	A68-B/A11	

T (Gal β 1-3GalNAc-)	+	+	5
A (Blutgruppe A)	(+)	+	10
Le ^c (Gal β 1-3GlcNAc-)	+	-	15
Forssman (F.-Antigen)	-	+	20
Le ^a (Lewis a)	-	-	25
Le ^b (Lewis b)	-	-	30
Le ^x (Lewis x)	-	-	
N-Acetyllaktosamin	(+)	-	

Beispiel 4

Charakteristik des Antikörpers A78-G/A7 (Anti-TF-Antigen)

4.1 Temperaturabhängigkeit der Antigen-Antikörperbindung (Abb. 1). Antigen: Asialo-Glykophorin, 2 µg/ml, 50 µl/Well. Abszisse: Verdünnung des Antikörpers; Anfangskonzentration 45 µg/ml.

4.2 pH-Abhängigkeit der Antigen-Antikörperbindung (Abb. 2). Antigen: Asialo-Glykophorin, 2 µg/ml, 50 µl/Well. Abszisse: Verdünnung des Antikörpers; Anfangskonzentration 45 µg/ml.

Beispiel 5

Immunhistologischer Nachweis von Tumoren mit dem Antikörper A78-G/A7

5.1 Reaktion von menschlichen Zelllinien mit A78-G/A7 (Tab. 3). Methodik: Immunfluoreszenztest an Zellen auf Multitest-Objektträgern

Tabelle 3

Immunzytologie mit dem Antikörper A78-G/A7 (Spezifität: Thomsen-Friedenreich-Antigen)

Zelllinie	Herkunftsgewebe	Reaktion
T-47D	Mammakarzinom	+/-
MCF-7	"	(+)/-
CAMA-1	"	+/-
BT-20	"	-
MDA-MB-231	"	-
MaTu	"	-
HMEC	Normales Mammaepithel	-
Fibroblasten	Normales Mammagewebe	-
Ls174T	Kolonkarzinom	+/-
T-24	Blasenkarzinom	-
HeLa	Zervixkarzinom	+/-
A-204	Rhabdomyosarkom	+/-
HL-60	Akute myeloische Leukämie	+
KG-1	"	+/-
Molt-4	T-Zell-Leukämie	-

Anmerkung: Das Reaktionsmuster des Antikörpers A78-G/A7 mit den untersuchten Zelllinien entspricht der Expression des TF-Antigens auf diesen Zellen

5.2 Ergebnisse immunhistologischer Studien an einer Reihe von menschlichen Geweben (Tab. 4).
Methodik: Paraffin-(P) oder Gefrierschnitte (G); Nachweissystem ABC Elite-Kit (Vector Laboratories, Burlingame, USA).

Tabelle 4

Immunhistologie mit dem Antikörper A78-G/A7 (Spezifität: Thomsen-Friedenreich-Antigen)

Gewebetyp	Zahl d. Pat.	positiv	% positiv
Mammakarzinom			
Primärtumor	46	40	87
Metastase	23	21	91
Normales Mammaepithel			
Randbereich	21	4	19 ¹
Kolonkarzinom			
Primärtumor	22	13	59
Metastase	7	6	86
Normales Kolonepithel			
Randbereich	25	0	0

¹Überwiegend Membran und Milchfett-Tröpfchen

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von monoklonalen Antikörpern gegen das Thomsen-Friedenreich-Antigen (TF-Antigen) mittels klonierter Hybridzellen, die hergestellt werden durch:

- A. Immunisierung von Versuchstieren, in erster Linie von Mäusen, mit natürlichem oder synthetisch hergestelltem TF-Antigen,
- B. Isolierung von Lymphozyten aus den Versuchstieren und Immortalisierung der Lymphozyten durch Zellfusion mit geeigneten Myelomzellen bzw. eine andere geeignete Immortalisierungsmethode,
- C. Selektion der immortalisierten Zelllinien,
- D. Testen der immortalisierten Zelllinien auf die Produktion von Antikörpern gegen das TF-Antigen,
- E. Klonierung der Zellen aus den Kulturen, die Antikörper gegen das TF-Antigen produzieren, Vermehrung dieser Zellklone und Gewinnung der von diesen Zellen produzierten spezifischen Antikörper und
- F. Ermittlung der Feinspezifität der Antikörper.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als TF-Antigen menschliches Glykophorin A nach Abspaltung der Neuraminsäurereste eingesetzt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als TF-Antigen synthetisch hergestelltes und an Serumalbumin chemisch gebundenes TF-Antigen eingesetzt wird.

4. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Myelomzellen für die Zellfusion vorzugsweise Zellen der Linie X63-Ag8.653 verwendet werden.

5. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellfusion oder Efusion mit Hilfe von Polyethylenglykol (PEG) durchgeführt wird.

6. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die fusionierten Zellen durch ein selektives Kulturmedium isoliert werden.

7. Monoklonale Antikörper gegen das TF-Antigen, hergestellt durch Vermehrung von Hybridomzellklonen, die nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6 hergestellt werden.

8. Monoklonale Antikörper nach Anspruch 7 gegen das alpha-Anomere des TF-Antigens, wie es im Glykophorin nach Abspaltung der Neuraminsäurereste vorkommt.

9. Monoklonale Antikörper nach Anspruch 7 mit bevorzugter Reaktion gegen das Beta-Anomere des TF-Antigens.

10. Monoklonale Antikörper nach Anspruch 7 und 8, hergestellt durch Vermehrung der Hybridzelllinie A 78-G/A7.

11. Monoklonale Antikörper nach Anspruch 7 und 9, hergestellt durch Vermehrung der Hybridzelllinie A 68-B/A11.

12. Hybridzelllinien, hergestellt nach einem oder mehreren der Ansprüche 1—6.

13. Verwendung der monoklonalen Antikörper nach einem oder mehreren der Ansprüche 7 bis 11 als Nachweisreagenzien.

14. Verwendung der monoklonalen Antikörper gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 7 bis 11, bevorzugt von A 78-G/A7, zum immunhistologischen Nachweis von Tumoren.

15. Verwendung der monoklonalen Antikörper nach einem oder mehreren der Ansprüche 7 bis 11 zum immunologischen Nachweis von Tumoren.

16. Verwendung der monoklonalen Antikörper nach einem oder mehreren der Ansprüche 7 bis 11 zur Präparation von TF-Antigen.

17. Verwendung der monoklonalen Antikörper nach Anspruch 7 und 11 zum Nachweis von TF-Antigen und verwandten Antigenen auf Glykolipiden.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

Abb. 1

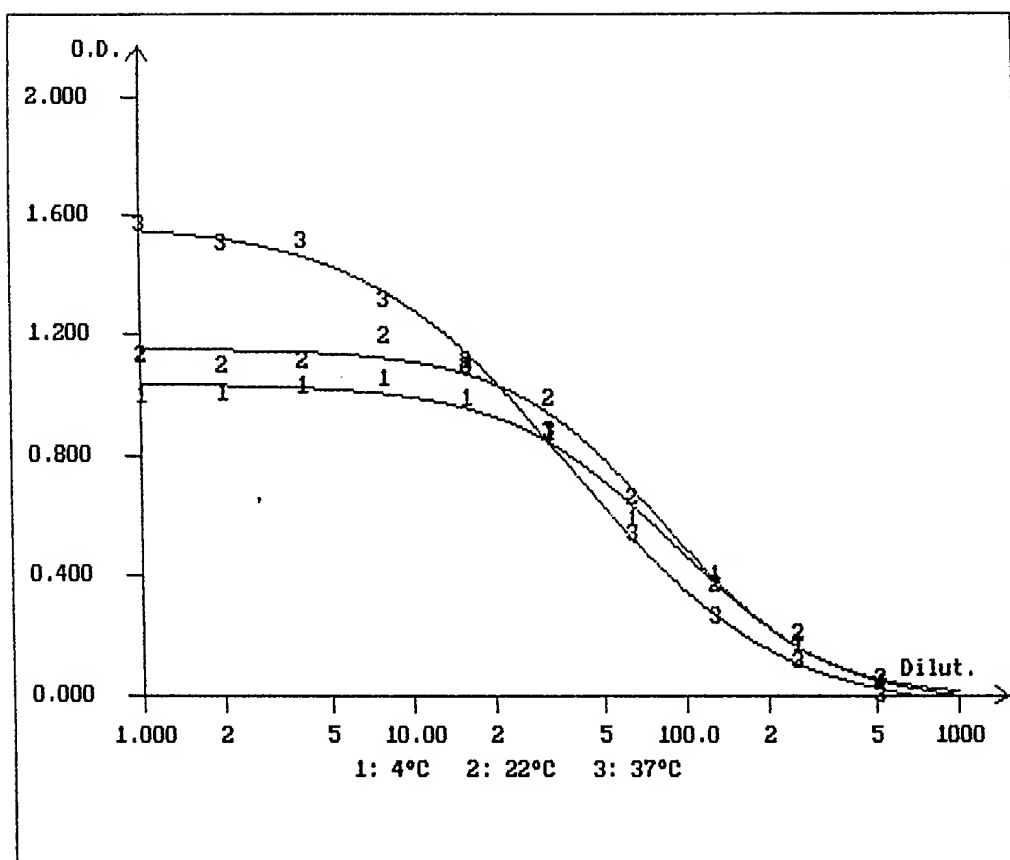


Abb. 2

